SESAME *Salmonella* TEST®

DOMAINE D'UTILISATION

SESAME *Salmonella* TEST® constitue une méthode alternative de recherche des salmonelles dans les produits d'alimentation humaine et animale, ainsi que dans les échantillons de l'environnement (à l'exclusion des échantillons de production primaire).
Les analyses peuvent être déclarées négatives en 48 heures après les deux seules étapes de pré-enrichissement (**SESAME *Salmonella* Enrichissement**) et de différenciation (**SESAME *Salmonella* Détection**).
La confirmation d'éventuels échantillons présomptivement positifs, réalisée à l'aide de **COMPASS® *Salmonella* Agar**, nécessitera une incubation supplémentaire de 24 heures.
SESAME *Salmonella* TEST® est officiellement certifié par AFNOR Validation, sous Attestation N° BKR 23/04-12/07, dont le terme de validité est fixé au 4 décembre 2011.

PRINCIPES

- L'étape de pré-enrichissement est réalisée par ensemencement et incubation pendant (18 ± 2) heures de **SESAME *Salmonella* Enrichissement**, milieu liquide dont l'équilibre osmotique et la formule tamponnée permettent la revivification optimale des salmonelles. La formule de **SESAME *Salmonella* Enrichissement** est conforme à celle de l'eau peptonée tamponnée.

- L'étape de différenciation est mise en œuvre par ensemencement et incubation pendant (24 ± 3) heures de **SESAME *Salmonella* Détection**. Les excellentes capacités migratoires de ce milieu semi-solide, associée à une sélectivité appropriée, permettent de sélectionner rapidement les échantillons présomptivement positifs par simple visualisation de la migration des salmonelles sur boîte de Petri. La méthode est destinée à la détection des salmonelles mobiles et n'est pas adaptée à la détection des salmonelles immobiles (souches immobiles ou ayant perdu leur mobilité).

- L'éventuelle étape de confirmation est réalisée par ensemencement et incubation pendant (24 ± 3) heures de **COMPASS® *Salmonella* Agar**. Le principe de ce milieu solide sélectif est basé sur la révélation spécifique de l'estérase et de la β-glucosidase présente pour la première et absente pour la seconde chez une très large majorité de salmonelles.
  De rares souches d'*Enterobacter* peuvent exprimer une activité estérase et produire des colonies bleu vert entourées d'une coloration magenta. Certaines souches de *Salmonella* appartenant aux sérovars Dublin et Atento, ainsi que quelques unes des sous-espèces *S. houtenae*, *S. bongori* et *S. diarizonae,* peuvent présenter une pigmentation magenta faible à nulle, en raison de la faible activité estérasique qui les caractérise.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

FORMULES TYPES ET PREPARATION DE SESAME *Salmonella* TEST®

(pouvant être ajustées de façon à obtenir des performances optimales)

SESAME *Salmonella* Enrichissement
(BK194, **BM136** ou **BM137** ou **BM144)**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone ..... 10 g
- Chlorure de sodium ..... 5 g
- Tampon phosphates ..... 5,06 g

pH 7,0 ± 0,2 (à 25°C)

SESAME *Salmonella* Détection
(BK195, **BM138)**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone..... 4,59 g
- Hydrolysat acide de caséine..... 4,59 g
- Chlorure de sodium..... 7,34 g
- Phosphate monopotassique ..... 1,47 g
- Agents inhibiteurs..... 10,98 g
- Agar agar bactériologique..... 2,70 g

pH 5,2 ± 0,2 (à 25°C)

PREPARATION

- Mettre en solution 20,0 g de milieu déshydraté (BK194) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- Les références BM136 et BM137 sont prêtes-à-l'emploi (voir § **PRESENTATION**).

PREPARATION

- Mettre en suspension 31,7 g de milieu déshydraté (BK195) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Ne pas autoclaver.
- Si la présentation prête-à-liquéfier (BM138) est utilisée, faire fondre la gélose pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliquéfaction totale.
- Ne pas répéter cette opération plus d'une fois.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47°C.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Ne pas sécher les boîtes ainsi préparées.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

MODE D'EMPLOI / LECTURE

- Introduire aseptiquement 25 g de produit à analyser dans **SESAME *Salmonella* Enrichissement** prêt-à-l'emploi, afin de réaliser une suspension au 1/10ème conformément aux recommandations de la norme NF EN ISO 6579.
- Homogénéiser parfaitement.
- Incuber à (37 ± 1)°C pendant (18 ± 2) heures.
- Ensemencer trois gouttes (environ 0,1 mL) de la culture provenant de **SESAME *Salmonella* Enrichissement**, au centre d'une boîte de **SESAME *Salmonella* Détection**.
- Incuber à (41,5 ± 1,0)°C, pendant (24 ± 3) heures, sans retourner les boîtes.

Le développement d'un halo opaque blanchâtre, de diamètre au moins égal à 30 mm, centré sur le point d'ensemencement, indique présomptivement la présence de salmonelles.

NOTE :

Dans le cadre de la marque AFNOR Validation, les prises d'essai supérieures à 25 g n'ont pas été testées.

RAPPEL 1 :

La méthode est destinée à la détection des salmonelles mobiles et n'est pas adaptée à la détection des salmonelles immobiles (souches immobiles ou ayant perdu leur mobilité).

NOTE :

SESAME *Salmonella* Détection peut être conservé pendant 72 h à 4°C après ensemencement et incubation avant de réaliser les éventuelles confirmations.

CONFIRMATION

Dans le cadre de la marque AFNOR VALIDATION, tous les résultats positifs doivent être confirmés de la (l'une des) manière(s) suivante(s) :

Option 1 : Mise en œuvre des **tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification),** en repartant d'une fraction de culture bactérienne prélevée en périphérie de la zone de migration obtenue sur SESAME *Salmonella* Détection.
Pour les modalités de confirmation se reporter à la norme NF EN ISO 7218.

Option 2 : Mise en œuvre de **COMPASS® *Salmonella* Agar**.

Option 3 : Utilisation de **toute autre méthode certifiée AFNOR VALIDATION**, de **principe différent**. Le protocole validé de la seconde méthode devra être respecté dans son ensemble, c'est à dire que toutes les étapes antérieures à l'étape intermédiaire de laquelle on repart pour la confirmation doivent être communes aux deux méthodes.
Les deux méthodes validées (l'une utilisée en détection et l'autre en confirmation) doivent donc avoir un tronc commun.

En cas de résultats discordants (positifs par la méthode alternative, non confirmés par l'une des options décrites ci-dessus), **le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu.**

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

RAPPEL 2 :

Après migration sur **SESAME *Salmonella* Détection** et isolement sur **COMPASS® *Salmonella* Agar,** de rares souches d'*Enterobacter* peuvent exprimer une activité estérase et produire des colonies bleu vert entourées d'une coloration magenta. Certaines souches de *Salmonella* appartenant aux sérovars Dublin et Atento, ainsi que quelques unes des sous-espèces *houtenae*, *bongori* et *diarizonae,* peuvent présenter une pigmentation magenta faible à nulle, en raison de la faible activité estérasique qui les caractérise.

CONTRÔLE QUALITE

SESAME *Salmonella* Enrichissement *:*

- Milieu préparé : solution ambrée, limpide, pouvant présenter un très léger précipité après conservation.

SESAME *Salmonella* Détection :

- Milieu préparé : gélose bleue, semi-solide.

Réponse culturale de croissance après (18 ± 2) heures d'incubation à (37 ± 1)°C sur **SESAME *Salmonella* Enrichissement**, puis (24 ± 3) heures d'incubation à (41,5 ± 1,0)°C sur **SESAME *Salmonella* Détection**, et enfin subculture sur **COMPASS® *Salmonella* Agar** pendant (24 ± 3) heures à (37 ± 1)°C :

Microorganismes		Croissance sur SESAME *Salmonella* Détection	Caractéristique culturale après subculture sur COMPASS® *Salmonella* Agar
Salmonella Enteritidis + *Escherichia coli* + *Pseudomonas aeruginosa*	CIP 82.97 ATCC® 25922 ATCC 27853	Culture blanchâtre, opaque ≥ 30mm	Colonies magenta
Salmonella Typhimurium + *Escherichia coli* +*Pseudomonas aeruginosa*	ATCC 14028 ATCC 8739 ATCC 27853	Culture blanchâtre, opaque ≥ 30 mm	Colonies magenta
Escherichia coli	ATCC 25922	Inhibée	
Enterococcus faecalis	ATCC 29212	Inhibée	

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

STOCKAGE / CONSERVATION

♦ SESAME *Salmonella* Enrichissement

Milieu déshydraté : 2-30°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en flacons ou en tubes : 6 mois à 2-25°C (à titre indicatif).

Milieux prêts-à-l'emploi en flacons ou en poches : 2-25°C, à l'abri de la lumière.
- Les dates de péremption sont mentionnées sur l'étiquette.

♦ SESAME *Salmonella* Détection

Milieu déshydraté : 2-25°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en boîtes : 15 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons : 2-8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en boîtes : 15 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (∅ 90 mm) : 2-8°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

♦ Kit SESAME *Salmonella* TEST® :

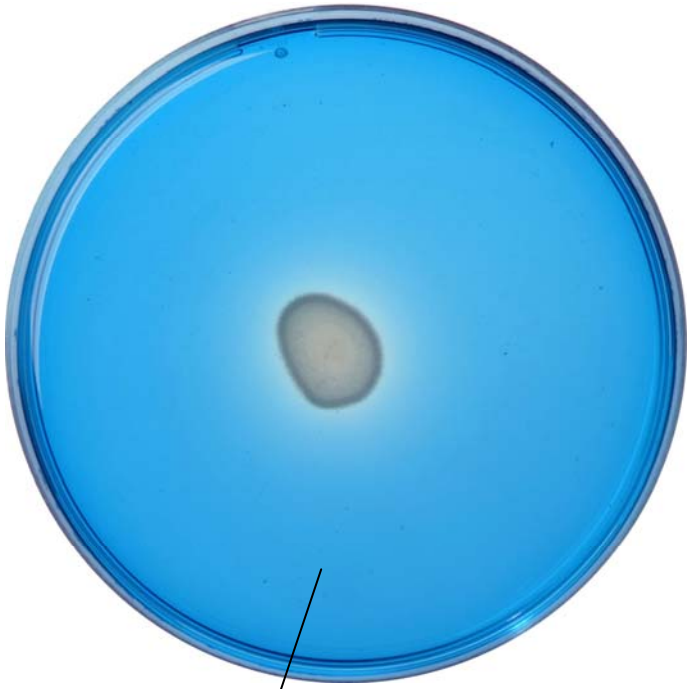
Milieux prêt-à-l'emploi et prêt-à-liquéfier en flacons : 2-8°C, à l'abri de la lumière.
- Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

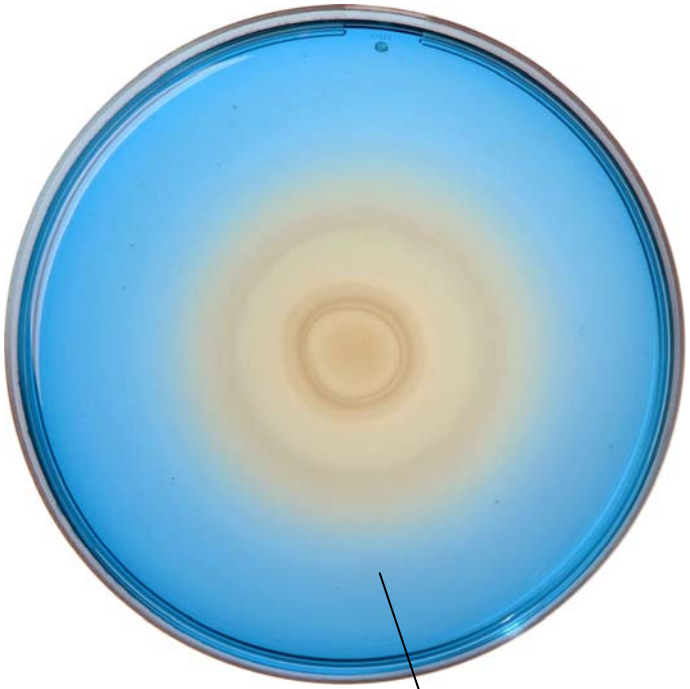
PRESENTATION	**Code**
Kit SESAME *Salmonella* TEST® :	
- Coffret composé de 9 flacons de 225 mL de **SESAME *Salmonella* Enrichissement** et de 1 flacon de 200 mL de **SESAME *Salmonella* Détection**	BT00908
SESAME *Salmonella* Enrichissement :	
- Flacon de 500 g	BK194HA
- Pack de 10 flacons de 225 mL	BM13608
- Carton de 3 poches souples de 3 litres	BM13708
- Carton de 2 poches souples de 5 litres	BM14408
SESAME *Salmonella* Détection :	
- Flacon de 500 g	BK195HA
- Pack de 10 flacons de 200 mL	BM13808
- Coffret de 20 boîtes de Petri (∅ 90 mm)	BM14108
- Coffret de 120 boîtes de Petri (∅ 90 mm)	BM15008

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO : Référence **: BK195HA, BM13808**

Domaine d'utilisation : Détection des salmonelles mobiles.





Enterobacteriaceae

Aspect non caractéristique

Si croissance, uniquement au point d'inoculation.
Pas de halo opaque.

Salmonella sp.

Aspect caractéristique

Culture blanchâtre et halo opaque centrés au point d'inoculation

SESAME *Salmonella* Détection

Réf : BM13808

Incubation 24 heures à 41,5°C (point d'inoculation au centre de la gélose)

Aspect caractéristique formant un halo opaque centré sur le point d'inoculation
(capacité à réaliser une migration)

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

PERRY, D.F., and QUIRING, C.. 1997. Fundamental aspects of enzyme/chromogenic substrate interactions in agar media formulations for esterase and glycosidase detection in *Salmonella*. In *Salmonella* and Salmonellosis-Proceedings. Ploufragan-France, 63-70.

HUMBERT, F., LALANDE, F., ROSE, V., et SALVAT, G.. 1998. Evaluation d'un nouveau milieu d'isolement pour la mise en évidence des salmonelles dans les élevages et les denrées d'origine animale. 5ème congrès de la Société Française de Microbiologie. 128.

NF EN ISO 16140 (V 08-103). Octobre 2003. Microbiologie des aliments. Protocole pour la validation des méthodes alternatives.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 6579 (V 08-013). Mars 2007. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.

NF EN ISO 7218 (V 08-002). Octobre 2007. Microbiologie des Aliments. Exigences générales et recommandations.

BKR 23/04-12/07
METHODES ALTERNATIVES D'ANALYSE POUR L'AGROALIMENTAIRE
Certifié par AFNOR Certification
www.afnor-validation.org

COMPASS® et **SESAME *Salmonella* TEST®** sont des marques de SOLABIA S.A.S..

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2009-09-11.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BT009/F/2007-12 : 5.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr